

## Makromolekulares Kolloquium

Freiburg/Brsg., 5. bis 7. März 1964

Aus den Vorträgen:

### Chromatographie makromolekularer Verbindungen

*Th. Wieland*, Frankfurt/M.

Makromolekulare Verbindungen lassen sich durch Gelchromatographie nach ihren Molekulargewichten trennen. Für Proteine wurden die Dextrangele Sephadex G-100 und G-200 verwendet, mit denen die Trennung im Molekulargewichtsbereich von 10000 bis 200000 gelang. Die individuelle Wanderungsgeschwindigkeit ermöglichte eine einfache Molekulargewichtsbestimmung. Künstliche Polymere, die in Wasser unlöslich sind, wie Polystyrolgemische, lassen sich in organischen Lösungsmitteln (z.B. Chloroform/Cyclohexan = 3:1) mit Hilfe von Gelen fraktionieren, die in den Lösungsmitteln quellen. Als Gele wurden Methacrylsäuremethylester-Äthylenglycoldimethacrylat-Polymeren verschiedenen Vernetzungsgrades (99:1 und 400:1) und verschiedener Herstellungsweise angewendet.

### Zur Quartärstruktur globulärer Proteine in Lösung

*R. Jaenicke*, Frankfurt/M.

Die Zusammenlagerung von Untereinheiten dissoziationsfähiger Proteine in Lösung zum „nativen Molekül“ lässt sich mit Hilfe hydrodynamischer Modelle in grober Näherung beschreiben. Systematische Variation der Mediums-Bedingungen zeigt, daß die Dissoziation abhängig ist von Proteinkonzentration, Nettoladung, Ionenstärke, Temperatur und spezifischen Zusatzkomponenten wie Harnstoff, Guanidin-Salzen, Detergentien, „SH-Reagentien“ etc. Diese Parameter können als Kriterien für die zwischenmolekularen Kräfte dienen, welche für die Stabilität des Protein-Moleküls in Lösung verantwortlich sind.

Am Beispiel einiger NAD-spezifischer Dehydrogenasen, (Isozyme von Lactatdehydrogenase, Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase, Maatdehydrogenase) wurden die molekularen Parameter (Sedimentationskonstante, Diffusionskonstante,  $[\eta]$ ,  $[\alpha]$ , Rotationsdispersionskonstante) in Abhängigkeit von den Bedingungen des Mediums untersucht. Erniedrigung der Proteinkonzentration und pH-Variation im Bereich der enzymatischen Aktivität führen innerhalb der Fehlergrenzen nicht zur Dissoziation des Moleküls. Bei  $\text{pH} > 11$  und  $< 3$  oder bei hoher Ionenstärke tritt Dissoziation ein. Aus dem Einfluß von Harnstoff und Guanidin-Salzen und der Aufspaltung infolge der Änderung von pH und Ionenstärke kann geschlossen werden, daß die Quartärstruktur der untersuchten Enzyme durch Wasserstoffbrücken (vor allem bei GAPDH), elektrostatische Wechselwirkungen (vor allem bei LDH) und (in geringerem Maße) hydrophobe Bindungen zusammengehalten wird.

### Zum molekularen Aufbau von Proteinen: Glutaminsäuredehydrogenase und $\beta$ -Galaktosidase

*H. Sund, K. Weber und K. Wallensels*, Freiburg i. Br.

Die Untersuchung zahlreicher einheitlicher Proteine hat gezeigt, daß sie in vielen Fällen nicht aus einer einzigen Peptidkette bestehen: Eine jeweils definierte Zahl von Untereinheiten tritt zur funktionellen Einheit des nativen Proteins zu-

sammen. Diese Untereinheiten sind durch Nebenvalenzkräfte und/oder durch Disulfidbrücken, nicht aber durch Peptidbindungen miteinander verknüpft.

Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber liegt bei Konzentrationen oberhalb 7 mg/ml als langgestrecktes Teilchen mit einem Teilchengewicht von 2·10<sup>6</sup> und einem Achsenverhältnis von 13–14 vor. Bei kleineren Konzentrationen dissoziert das Protein entsprechend dem Schema

$$(2 \cdot 10^6) \rightleftharpoons 2 (1 \cdot 10^6) \rightleftharpoons 4 (0,5 \cdot 10^6) \rightleftharpoons 8 (0,25 \cdot 10^6)$$

in Teilchen höherer Symmetrie. Zahlreiche Verbindungen können dieses Assoziations-Dissoziations-Gleichgewicht beeinflussen. In Gegenwart von Harnstoff, Dodecyl- oder Decylsulfat sowie bei pH-Werten oberhalb 11 oder unterhalb 4 tritt eine Aufspaltung des Moleküls in Untereinheiten auf, die Teilchengewichte von 60·10<sup>3</sup> bis 80·10<sup>3</sup> besitzen [1].  $\beta$ -Galaktosidase aus *E. coli* mit einem Molekulargewicht von 518000 wird durch Guanidin-HCl, Harnstoff, Dodecylsulfat oder Bernsteinsäureanhydrid in vier Untereinheiten vom Teilchengewicht etwa 140000 zerlegt. Die Oxydation durch Perameisensäure führt dagegen zu wesentlich kleineren Untereinheiten vom Teilchengewicht 43000. Die Dissoziation in die größeren Untereinheiten kann reversibel verlaufen:

$$518000 \rightleftharpoons 4 \cdot 140000$$

Dagegen gelang es bisher nicht, den weiteren Zerfall

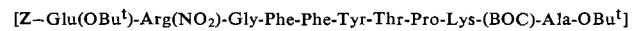
$$4 \cdot 140000 \rightarrow 12 \cdot 43000$$

rückgängig zu machen.

### Konformationsstudien an Insulin-Peptiden

*H. Zahn, E. Schnabel, P. Kusch und G. Heidemann*, Aachen

Das geschützte Dekapeptid aus der B-Kette des Insulins B<sub>21–30</sub>



erhält man aus 90-proz. Äthanol als Kristalle (1) vom Fp = 218°C. Nach gründlichem Auslaugen mit Chloroform wurden aus den Mutterlaugen Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 210 bis 212°C erhalten. Aus Dimethylformamid wurde ein kristallines Präparat (2) vom Fp = 213–215°C gewonnen.

Die beiden Präparate sind verschiedene Modifikationen, da sie sich in folgenden Eigenschaften charakteristisch unterscheiden: Debye-Scherrer-Röntgenogramm, Langperioden-Röntgenogramm, Infrarot-Spektrum und Viscosität. Stärkste Reflexe im Debyeogramm: (1) 4,9–5,0 Å, (2) 4,7 Å. Langperioden: (1) 61 Å, (2) 72 Å. Lage der Amidbande I im IR-Spektrum: (1) 1640 cm<sup>-1</sup>, (2) 1630 cm<sup>-1</sup>. Grenzviscosität in 80-proz. Äthanol 0,0035 l/g, in Dimethylformamid 0,005 l/g.

Die beiden Modifikationen lassen sich durch Umkristallisieren aus Dimethylformamid bzw. Alkohol/Chloroform ineinan-

[1] *H. Sund* in: *Mechanismen enzymatischer Reaktionen* (14. Mosbacher Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie). Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964, S. 318.

der umwandeln. Vortr. vermuten, daß in der Alkohol-Chloroform-Modifikation die Aminosäuren bis zum Prolin eine helixförmige Konformation haben, während in der DMF-Modifikation eine  $\beta$ -Struktur vorliegt.

### Untersuchungen an Lösungen von Cellulosenitrat in Butylacetat

J. Schurz, Graz (Österreich)

Beim Lösen von Cellulose trinitrat in Butylacetat wird ein übermolekularer Gelanteil beobachtet, der von der Art der Ausgangscellulose und den Nitrier- und Lösebedingungen abhängt. Bei Zellstoff-Faktionen beträgt er im Mittel 10%; beim Eindunsten kann man ihn in Sphärolith-Form erhalten.

Nach Filtration durch ultrafeine Glassinterfilter (G5f) liegen molekulardisperse Lösungen vor. In Butylacetat bei 25°C gilt für die Grenzviskositätszahl:

$$[\eta] = 2,8 \cdot 10^{-3} \cdot M_w$$

( $M_w$  = Molekulargewicht). Die Lösungen zeigen eine scherabhängige Viscosität (Strukturviscosität), die auf die Wirkung von Einzelteilchen und auf Wechselwirkungen zurückgeführt werden kann. Es wird eine Methode gezeigt, mit der man auf die Konzentration  $c = 0$  und auf das Geschwindigkeitsgefälle  $q = 0$  zugleich extrapoliert werden kann. Da Cellulosenitrat in Butylacetat gegenüber dem Gaußschen Idealknäuel bedeutend aufgeweitet ist, kann nur ein „scheinbares“ statistisches Fadenelement  $A_m'$  angegeben werden, dessen Länge vom Molekulargewicht abhängt; sie beträgt für einen Polymerisationsgrad von 1000 und mehr 210 Å. Eine Mischung aus Butylacetat und Äthanol ist bei 25°C für Cellulose trinitrat ein  $\Theta$ -Lösungsmittel. Aus Lichtstreuungsmessungen und vor allem auch aus Viscositätsmessungen im  $\Theta$ -Lösungsmittel kann für das ungestörte Knäuelmolekül ein  $A_m$ -Wert von etwa 160 Å ermittelt werden.

### Über die Gestalt der Carbanilate von Amylose, Cellulose und Polyvinylalkohol in Lösung

W. Burchard, Freiburg i. Br.

Streulichtmessungen in mehreren Lösungsmitteln ergaben bei Amylosecarbanilat eine starke Abhängigkeit der „ungestörten“ Trägheitsradien von der Zusammensetzung der  $\Theta$ -Lösungsmittel, während bei Cellulosecarbanilat der Trägheitsradius in den  $\Theta$ -Lösungsmitteln stets gleich bleibt. Da feststeht, daß die Glucose in der Cellulosekette stets in der Sesselkonformation C1 vorliegt, bei der Amylose jedoch zwei Glucoskonformationen diskutiert werden, läßt sich ein Zusammenhang mit den „ungestörten“ Trägheitsradien des Amylosecarbanilats vermuten. Die Berechnungen der Rotationsbehinderung der Grundbausteine ergeben unter der Annahme zweier Glucoskonformationen für Amylose- und Cellulosecarbanilat nahezu gleiche Werte.

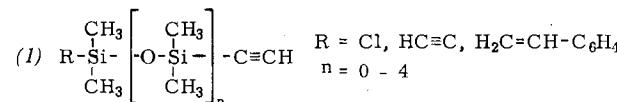
Untersucht man dagegen Cellulosecarbanilate in guten Lösungsmitteln, so fällt bei den Lösungen von Ketonen auf, daß sich der Trägheitsradius bei Zugabe von geringen Mengen Methanol oder Wasser sprunghaft um 25–80% erhöht, ohne daß sich dabei der zweite Virialkoeffizient wesentlich verändert. Um entscheiden zu können, ob dieses Verhalten durch die polare Carbanilatgruppe oder durch die kompliziert aufgebaute Grundkette der Cellulose verursacht wird, wurde das Carbanilat des Polyvinylalkohols näher untersucht.

Bei Zugabe von Methanol oder Wasser zu den Lösungen von Ketonen des Polyvinylcarbanilats stellt sich ein ähnlicher, aber nicht so ausgeprägter Effekt ein wie bei dem Cellulosecarbanilat. Andererseits ist in den  $\Theta$ -Lösungsmitteln der „ungestörte“ Trägheitsradius von der Art des  $\Theta$ -Lösungsmittels abhängig, das Polyvinylcarbanilat ist also in dieser Hinsicht dem Amylosecarbanilat ähnlich. Die Ursachen für dieses eigenartige Verhalten werden eingehend diskutiert.

### Über Herstellung und Reaktionen siliciumorganischer Acetylenlenderivate

G. Greber und F. Senge, Freiburg i. Br.

Durch Umsetzung von Acetylen-metall-Verbindungen oder Dimethyläthinylsilanol mit entsprechenden Chlorsiloxan- bzw. Chlorsilan-Verbindungen entstehen siliciumorganische Derivate (1), die sowohl an der Acetylengruppe als auch an der funktionellen Gruppe R Reaktionen ermöglichen. Die Silanol-Methode ist zur Darstellung der Verbindungen (1),  $n=1-4$  vorzuziehen.



Die Chlor-Si-Verbindungen (1),  $R = \text{Cl}$ , wurden mit  $\text{LiAlH}_4$  zu den Hydro-Derivaten (1),  $R = \text{H}$ , reduziert, die sich in Gegenwart von  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  als Katalysator zu cyclischen und linearpolymeren polyaddieren ließen. Neben einigen üblichen Reaktionen der Acetylengruppe untersuchten Vortr. die oxidative Kupplung, ( $\text{Pyridin}/\text{CuCl}_2/\text{O}_2$ ), die bei Verwendung von Polysiloxanen mit zwei Acetylengruppen (1),  $R = \text{HC}\equiv\text{C}$ , zu schwarzen, unlöslichen, bis 400°C beständigen polymeren Produkten führt.

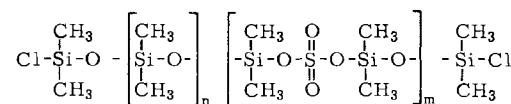
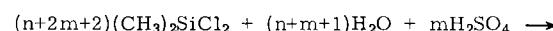
Die Styrol-Derivate (1),  $R = \text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_4$ , wurden zu Makromolekülen mit seitenkettenständigen Acetylengruppen homo- sowie mit Styrol copolymerisiert und die Copolymerisationsparameter bestimmt. An diese Makromoleküle ließen sich z.B. H-Si-Verbindungen addieren. Nach Ersatz der Acetylenwasserstoffatome gegen Metallatome (Li) eigneten sich die Polymerisate auch für Ppropfreaktionen, z. B. mit 2-Vinylpyridin oder Acrylnitril.

Außerdem synthetisierten Vortr. das Bis-dimethylhydroxysilylacetylen  $\text{HO}-\text{Si}(\text{CH}_3)_2-\text{C}\equiv\text{C}-(\text{CH}_3)_2\text{Si}-\text{OH}$  und untersuchten einige seiner Umsetzungen.

### Über Siloxane mit reaktionsfähigen Endgruppen

G. Rossmy, Essen

Siloxane, die Silylsulfat-Gruppen  $\text{Si}-\text{O}-\text{SO}_2-\text{O}-\text{Si}$  enthalten, erreichen leicht die Gleichgewichts-Polymerenverteilung. Diese Äquilibrierung erfolgt zumindest im Endstadium – im Gegensatz zu der bekannten Siloxan-Äquilibrierung mit Schwefelsäure – in homogener Phase. Dadurch wird eine neue einfache und sehr vielseitige Synthese von Siloxanen mit endständigen Si-Cl-Gruppen ermöglicht. Beispielsweise setzt man Dimethyl-dichlorsilan mit wässriger Schwefelsäure um, deren Menge so bemessen wird, daß sie nicht zur Abspaltung aller Cl-Atome ausreicht. Das anfangs inhomogene und durch das Entweichen gasförmiger  $\text{HCl}$  abgekühlte Reaktionsgemisch bildet beim Erwärmen unter Rühren eine einheitliche und äquilierte Phase. Verzweigte Silane setzen sich entsprechend um.



Die Si-Cl- und Silylsulfatgruppen reagieren mit Wasser, Hydroxylverbindungen und deren Metallderivaten, mit Aminen oder Ammoniak unter Bildung von Siloxanen mit endständigen Hydroxyl-, Alkoxy-, Acyloxy- und Amino-Resten oder zu Siloxanen, die über Silazan-Bindungen verknüpft sind. Viele dieser äquilibrierten Siloxane mit reaktionsfähigen End-